

Тема 1

Микробиологическая лаборатория, режим работы в ней. Методы микробиологического исследования. Микроскопический метод исследования. Микроскопы, правила работы с иммерсионным объективом. Классификация, морфология и ультраструктура бактерий. Приготовление мазков из патологического материала и чистых культур микробов. Анилиновые красители. Простой метод окраски.



ОБСУЖДАЕМЫЕ ВОПРОСЫ:

- 1. Введение в предмет «Медицинская микробиология и иммунология», ее место в медицинском образовании, значение во врачебной деятельности.
- 2. Разделы, цель и задачи предмета.
- 3. Современные принципы классификации микроорганизмов. Основные группы микроорганизмов. Прокариоты (бактерии, спирохеты, актиномицеты, риккетсии, хламидии, микоплазмы), эукариоты (простейшие, грибы) и вирусы.
- 4. Таксономия и таксономические категории: царство-отдел-класс-порядок-семейство-род-вид-подвид. Вид - как основная таксономическая категория. Понятия о категориях подвида: биовар, серовар, фаговар. Понятия «культура», «штамм», «клон». Номенклатура микроорганизмов.
- 5. Классификация прокариот по Берджи
- 6. Виды (бактериологическая, микологическая, паразитологическая, вирусологическая, иммунологическая, молекулярно-генетическая, особого режима) и оборудование микробиологических лабораторий.
- 7. Оснащение и приборы
- 8. Режим работы в микробиологической лаборатории
- 9. Методы микробиологической диагностики:
 - а) *Микроскопический*; б) *Культуральный*; в) *Биологический (экспериментальный)*; г) *Иммунологический (серологические реакции, кожно-аллергические реакции)*; д) *Молекулярно-генетические методы*.
- 10. Значение микроскопического метода.
- 11. Типы микроскопов (световой, темнопольный, фазово-контрастный, люминесцентный, электронный, сканирующий), техника микроскопирования. Увеличительная способность микроскопа.
- 12. Типы объективов. Правила работы с иммерсионным микроскопом.
- 13. Морфология бактерий (кокки, палочковидные, извитые и нитевидные бактерии).
- 14. Микроскопический метод исследования.
- 15. Этапы приготовления мазка.
- 16. Метод обезжиривания предметного стекла.
- 17. Приготовление мазка из гноя, мокроты, крови и культуры микробов.
- 18. Высушивание мазка.
- 19. Фиксация мазка (физическая, химическая, смешанная).
- 20. Анилиновые красители, их классификация по химическому составу и цвету.
- 21. Простой метод окраски.



ЦЕЛЬ ЗАНЯТИЯ:

- Дать студентам информацию о видах и устройстве микробиологических лабораторий, режиме работы в них. Разъяснить методы микробиологического исследования. Ознакомить студентов с микроскопическим методом, с типами современных микроскопов и правилами работы с иммерсионным объективом. Объяснить роль микробиологической лаборатории в диагностике инфекционных заболеваний. Дать информацию о классификации, морфологии и ультраструктуре бактерий. Научить их методам приготовления мазков из гноя, крови, мокроты и чистой культуры, фиксации и окраски. Дать сведения об анилиновых красителях и простом методе окраски, подчеркнуть роль этого метода диагностики.



Предмет микробиология

Микробиология - (греч. **mikros**-малый, лат. **bios**-жизнь, **logos**-наука) - это наука, изучающая закономерности жизнедеятельности микроорганизмов, невидимых невооружённым глазом.

Общая микробиология – изучает морфологию (форму и строение), физиологию (питание, метаболизм, дыхание и размножение), генетику (наследственность и изменчивость) микроорганизмов.

Частная микробиология – изучает особенности отдельных микроорганизмов. В связи с этим она делится на такие разделы, как бактериология, вирусология, микология, протозоология.

Объектами исследования микробиологии являются прокариоты (бактерии, спирохеты, риккетсии, хламидии, микоплазмы, актиномицеты), эукариоты (микроскопические грибы и простейшие), имеющие клеточное строение, а также вирусы, вирионы и прионы, не имеющие клеточного строения.

КЛАССИФИКАЦИЯ ЦАРСТВА МИКРОБОВ



КЛАССИФИКАЦИЯ ПРОКАРИОТ

- Современная классификация прокариот была предложена американским бактериологом **в 1923 году**. Она регулярно обновляется Международным Комитетом по Систематике бактерий.
- В последней 9-ой публикации прокариоты по строению клеточной стенки подразделяются на четыре категории.
- Каждая категория состоит из многочисленных групп.



СОВРЕМЕННАЯ КЛАССИФИКАЦИЯ ПРОКАРИОТ ПО БЕРДЖИ

- Грамотрицательные, имеющие клеточную стенку эубактерии
- Грамположительные, имеющие клеточную стенку эубактерии
- Эубактерии, не имеющие клеточную стенку
- Архебактерии



*В современной классификации прокариот имеется
24 типа, 33 класса*

*1. Эубактерии с тонкой Грам-отрицательной
клеточной стенкой - **Gracilicutes** 16 групп*

*2. Эубактерии с толстой Грам-положительной
клеточной стенкой – **Firmicutes** 13 групп*

*3. Эубактерии, не имеющие клеточной стенки –
микоплазмы - **Tenericutes** класс Mollicutes – 1
группа*

*4. У архебактерий клеточная стенка и
пептидогликан отсутствуют. Не вызывают
болезней у человека. Включают 5 групп.*



Классификация и таксономия бактерий

ДОМЕН БАКТЕРИИ

Прокариоты

Эубактерии

Археобактерии

Gracilicutes
Грам-
отрицательны
е

Firmicutes
Грам-
положительны
е

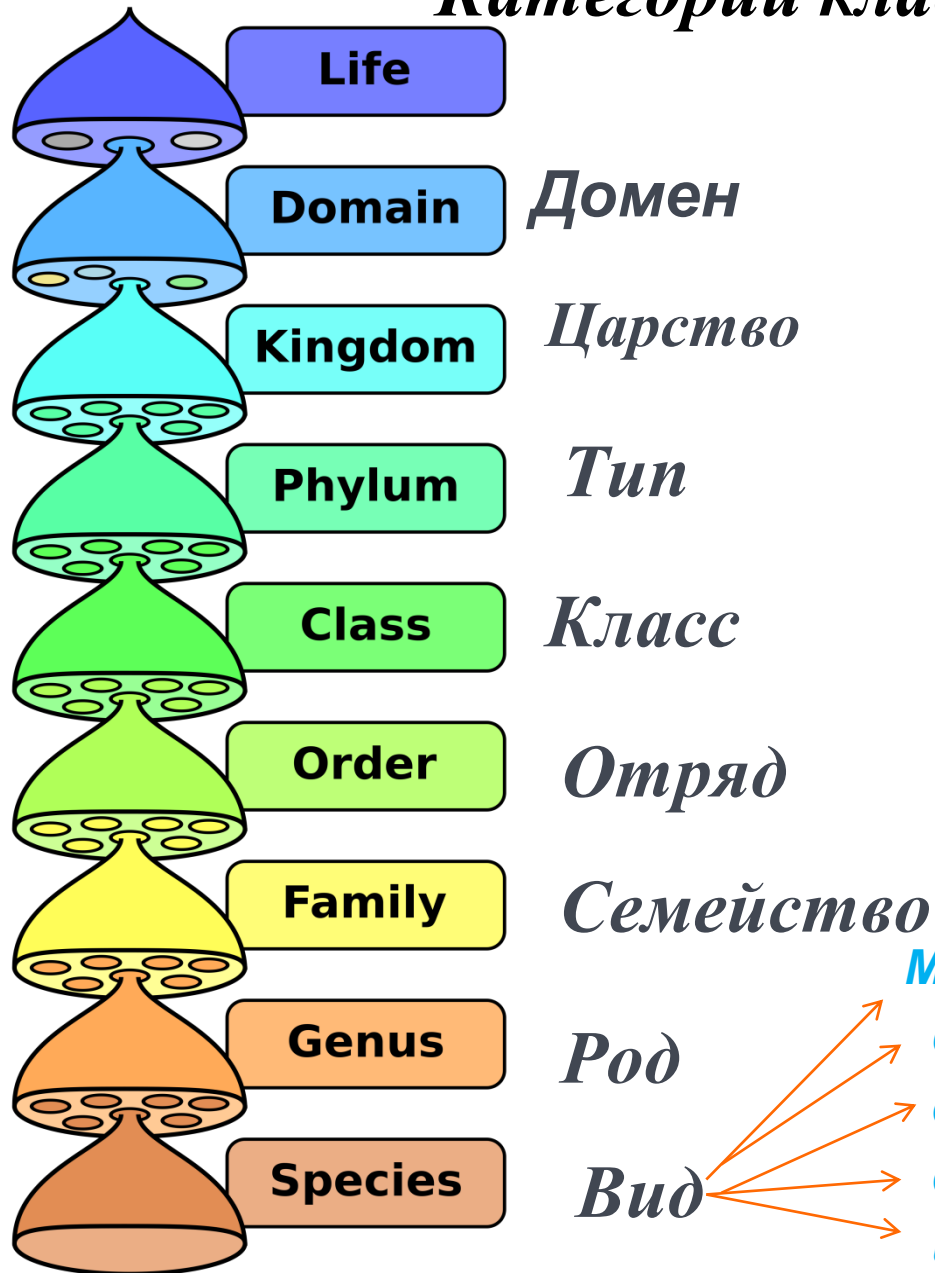
Tenerecutes
Микоплазма

Без клеточной
стенки
(Mendosicutes)



Таксономия микроорганизмов

Категории классификации



Каждый микроорганизм в систематике имеет определённую таксономию (греч. taxis-место, ряд).

К таксономии относятся:

✧ **Классификация**

➤ **Идентификация**

✧ **Номенклатура**

Морфовар

биовар

серовар

фаговар

штамм



ТАКСОНОМИЧЕСКИЕ КАТЕГОРИИ

Царство	Prokaryotae
Тип	Gracilicutes
Класс	Scotobacteria
Порядок	Eubacteriales
Семейство	Enterobacteriaceae
Род	Escherichia
Вид	coli
Подвид	Escherichia coli O157:H7

Считается, что для таксонов высокого ранга больше подходит название не «Отдел», а «Тип» (Phylum).



Идентификация микроорганизмов

- *морфологическая*
- *тинкториальная*
- *культуральная*
- *биохимическая*
- *антигенная*

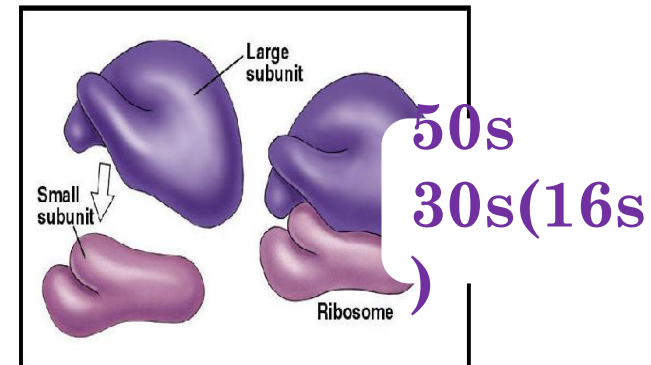
По фенотипу

- *По процентному соотношению Г+ Ц*
- *По гибридизации ДНК,*
- *Секвенирование,*
- *По действию фермента рестриктазы.*
- *По полиморфизму в цепочке ДНК*

По генотипу

- *Консерватизм рибосомы 16S*
- *Гены, кодирующие RNT и рибосомные белки*

По филогенезу



НОМЕНКЛАТУРА МИКРООРГАНИЗМОВ

- *Применяется номенклатура микроорганизмов, созданная К.Линнеем для обозначения их названий (кроме вирусов).*
- *В этом случае первое слово обозначает род, оно пишется с заглавной буквы, второе слово означает вид и пишется с маленькой буквы.*

Например, Mycobacterium tuberculosis

Francisella tularensis

Staphylococcus aureus* *və s.

➤ **Вид** – это микроорганизмы, имеющие общее происхождение и похожие морфо-биологические свойства.

➤ **Штамм** – это чистая культура одного вида микроорганизмов, полученных из различных (или одного) источников в разное время.

➤ **Клон** – культура, выращенная из одной микробной клетки.

➤ **Колония** – это скопление (популяция), образуемая бактериями на твёрдых питательных средах.

➤ **Чистая культура микроба** – имеется ввиду популяция, образованная одним видом микроорганизма на плотной питательной среде.



Внутривидовые варианты

➤ *морфовар* – вариант, отличающийся от основного вида по морфологическим свойствам.

➤ *биовар* – отличие по нескольким биологическим свойствам

➤ *серовар* – отличие по антигенной структуре

➤ *фаговар* – по чувствительности к определённому фагу

➤ *хемовар* – отличие по биохимическим свойствам

➤ *резистовар* – отличие по чувствительности к антимикробным препаратам



Роль микробиологической лаборатории в диагностике заболеваний

*Исследования микробиологических лабораторий играют важную роль в ранней и точной **диагностике** инфекционных заболеваний.*

Микробиологические лаборатории функционируют в :

- ✓Центрах гигиены и эпидемиологии*
- ✓поликлиниках*
- ✓больницах и*
- ✓научно-исследовательских институтах*

Виды микробиологических лабораторий

Виды микробиологических лабораторий

```
graph TD; A[Виды микробиологических лабораторий] --- B[Бактериологические]; A --- C[Микологические]; A --- D[Вирусологические]; A --- E[Иммунологические]; A --- F[Молекулярно-генетические]; A --- G[Особо-опасные];
```

*Бактерио-
логические*

*Мико-
логические*

*Вирусо-
логические*

*Иммуно-
логические*

*Молекулярно
генетические*

*Особо-
опасные*

СТРУКТУРА МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ЛАБОРАТОРИЯ СОСТОИТ ИЗ СЛЕДУЮЩИХ ПОМЕЩЕНИЙ:

- 1. КОМНАТА ОТБОРА ПРОБ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ**
- 2. ПРЕПАРАТОРСКАЯ** – для приготовления питательных сред, материалов, красителей для проведения исследования
- 3. АВТОКЛАВНАЯ** – для размещения стерилизационного оборудования (автоклав, паровой стерилизатор)
- 4. МОЕЧНАЯ** – для дезинфекции и мытья чашек Петри, пробирок, колб, использованных пипеток.
- 5. КОМНАТА ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЙ** – для исследования проб пациентов – гноя, мокроты, крови, мочи, кала, спинно- мозговой жидкости различными методами
- 6. ВИВАРИУМ**– для содержания экспериментальных животных

Современная микробиологическая лаборатория





Оборудование микробиологической лаборатории



Чашки Петри



тампоны



петля



игла



шпатель



*Спиртовая
горелка*

Оборудование микробиологической лаборатории



Стаканы



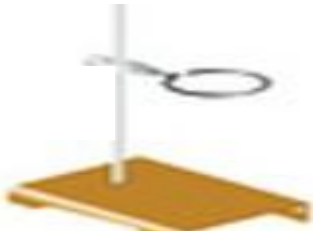
Посуда для реагентов



Пробирки



штатив



Штатив и зажим



микроскоп



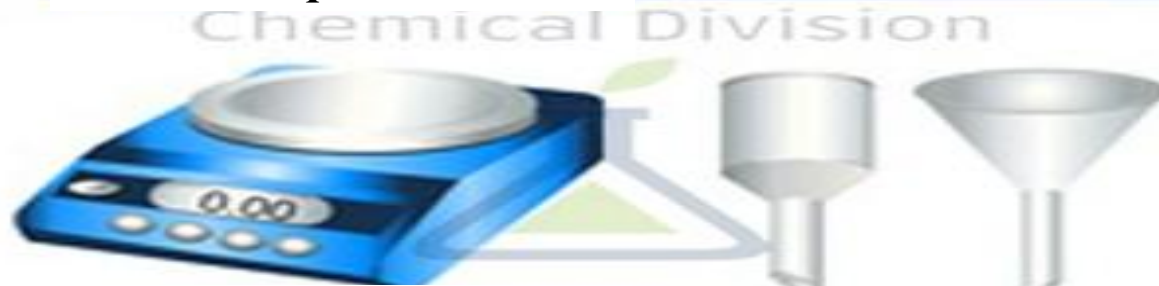
Мерные цилиндры- мензурки



Газовая горелка



пипетка



Электронные весы



Воронки для фильтров



Колбы с ровным основанием



ПРИБОРЫ , ПРИМЕНЯЕМЫЕ В МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ

- 1. Микроскопы***
- 2. Автоклав***
- 3. Паровой стерилизатор***
- 4. Термостат***
- 5. Водяная баня***
- 6. Холодильный шкаф***
- 7. Центрифуга***



ПРИБОРЫ, ПРИМЕНЯЕМЫЕ В МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ



Система Газпак



Печь Пастера



Центрифуга



Холодильные шкафы



Автоклав



Магнитная мешалка

Бактериологические анализаторы



Анализаторы для идентификации микроорганизмов, изучения их чувствительности к антибиотикам и гемокультуры



РЕЖИМ РАБОТЫ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ

В микробиологических лабораториях лечебных учреждений, работающих с патогенными микроорганизмами для предупреждения повторного инфицирования и распространения микробов необходимо соблюдать следующие правила (т.н. режим работы лаборатории)

- a) В лабораторию нельзя заходить без халата и колпака В случае необходимости нужно использовать маску.*
- b) Нельзя заходить в лабораторию в верхней одежде, много передвигаться и много разговаривать.*
- c) В лаборатории нельзя кушать, пить чай и курить*
- d) В случае попадания патологического материала на халат, стол или на пол, необходимо немедленно обработать дезинфицирующим средством.*
- e) Использованные пипетки, шпатели, пробирки, чашки Петри необходимо замочить в дезинфицирующем растворе.*
- f) В конце работы рабочий стол необходимо убрать, дезинфицировать, засеянные чашки Петри поместить в термостат, музейные штаммы и неиспользованные питательные среды поместить в холодильник.*
- g) Предметный столик микроскопа и объектив с увеличением 90 необходимо очистить от масла и положить под объектив кусочек марли. Для предотвращения попадания пыли микроскоп необходимо накрывать специальным покрытием.*
- h) По окончании работы нужно протереть руки салфеткой, пропитанной дезинфицирующим раствором и вымыть с мылом.*

При проведении микробиологических лабораторных исследований необходимо соблюдать следующие правила:

- 1. Работать с инфицированным материалом только с помощью инструментов (пинцет, петля и др.)***
- 2. Прикасаться к культуре микроба в чашке Петри и конденсату запрещается***
- 3. До начала работы необходимо проверить целостность стеклянной посуды, проводимость игл, надёжность шприцов.***
- 4. Во время посева материала на чашку Петри, колбу, флаконы нанести дату и номер анализа.***
- 5. На пробирку, чашку Петри материал переносится над пламенем горелки, щипатель, края пробирки нужно провести через пламя, а петлю прокалить в пламени.***
- 6. Во время работы чашки Петри должны быть в кювете либо на подносе, а пробирки - в штативе.***
- 7. Суспензия патогенных микроорганизмов нужно переносить пипеткой Пастера с резиновым баллончиком.***
- 8. Пипетировать ртом и переносить в посуду рядом с другой посудой запрещается.***
- 9. По окончании работы оставлять на столе фиксированные препараты, чашки Петри, пробирки, другую зараженную посуду запрещается.***

Методы микробиологического исследования

1. Микроскопический метод

2. Культуральный (бактериологический, вирусологический, микологический, паразитологический) метод

3. Биологический метод

4. Иммунологический метод

- серологический

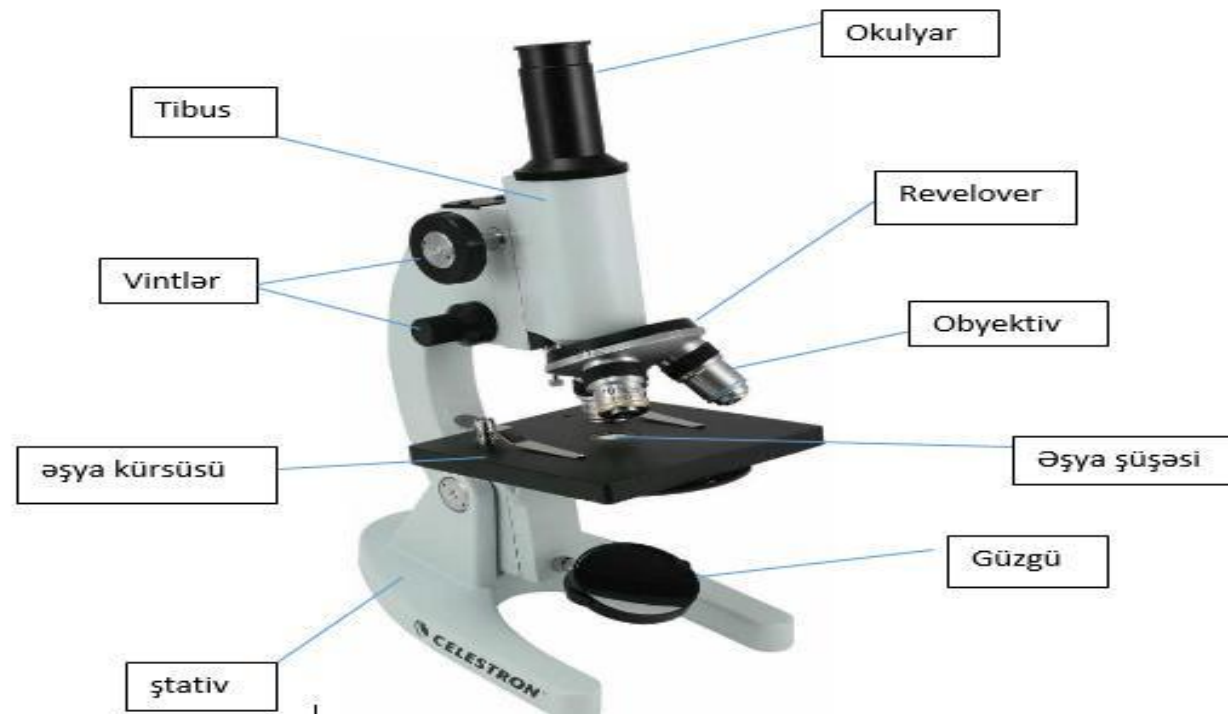
- кожно-аллергические пробы

5. Молекулярно-генетический метод



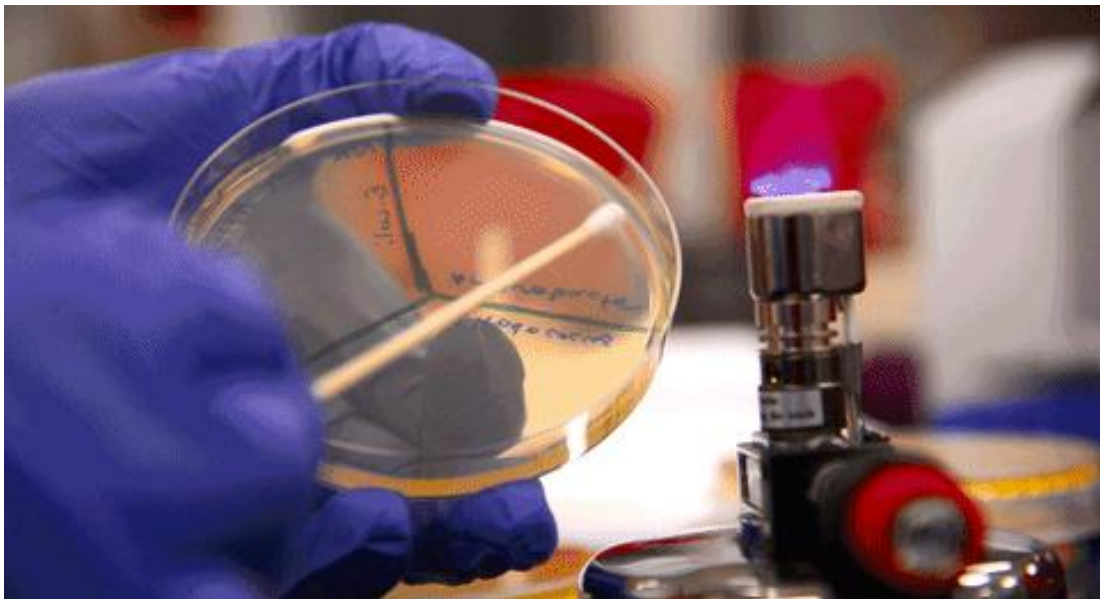
Метод микроскопии

- ❑ С помощью микроскопического метода в исследуемом материале определяют наличие микроорганизмов и их морфологию.
- ❑ Дополнительные элементы – определяют наличие капсулы, спор, жгутиков, других элементов (зёрна волютина).
- ❑ Поскольку многие микроорганизмы невозможно определить на основании морфологии и тинкториальных свойств, поэтому микроскопический метод считается приблизительным диагностическим методом.



Культуральный (бактериологический) метод

- *При проведении исследования этим методом производится посев патологического материала на соответствующие питательные среды, инкубация, получение «чистой культуры» и идентификация.*
- *Будучи **«золотым стандартом»** микробиологической диагностики, метод позволяет правильно определить возбудителя.*



БИОЛОГИЧЕСКИЙ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЙ МЕТОД

- ❑ *Производится заражение лабораторных животных патологическим материалом*
- ❑ *Биологический метод применяют, если невозможно получить чистую культуру бактериологическим методом.*
- ❑ *Изучается патогенность, вирулентность и токсигенность микроба.*
- ❑ *Проводятся экспериментальные исследования новых лекарственных препаратов.*



ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ МЕТОД

Серологический метод – в сыворотке крови определяют антигены возбудителя, либо антитела против возбудителя, а так же с помощью известной иммунной сыворотки определяют вид и серовар неизвестного микроба (**серологическая идентификация**).



КОЖНО-АЛЛЕРГИЧЕСКАЯ ПРОБА

- *В связи с тем, что антигены возбудителей вызывают сенсibilизацию, для диагностики инфекционных болезней применяются аллергические реакции*
- *при туберкулёзе - проба Манту,*
- *при бруцеллёзе - проба Бюрне,*
- *при туляремии - реакция на тулярин и т.д.*



МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ МЕТОД

- **Полимеразная цепная реакция.** Основана на принципе приумножения (амплификации) и определения нуклеиновой кислоты возбудителя в патологическом материале либо в чистой культуре.
- **ДНК и молекулярная гибридизация РНК.** Основаны на определении геномных фрагментов, характерных для возбудителя.
- Основное преимущество молекулярно-генетического метода – высокая чувствительность и специфичность..



Микроскопы

В микробиологических лабораториях для исследования микроорганизмов применяется микроскоп..

➤ *Микроскоп* (lat. **mikro** — малый, **skopid** — смотрю) — служит для увеличения изображения объекта, в том числе измерения невидимых частей объекта.

➤ Современный **биологический микроскоп** — это сложный оптический прибор, который помогает изучить объекты, проводящие световые лучи в светлом и тёмном поле

➤ Для изучения формы, строения, размеров и других свойств бактерий размером более **0,2 мкм** применяется световой микроскоп.

***Виды
микроскопов***

```
graph TD; A[Виды микроскопов] --> B[Биологический (световой) м.]; A --> C[Электронный м.]; A --> D[Другие м.]; B --> E[Темнопольный м.]; B --> F[Контрастно-фазный м.]; B --> G[Люминесцентный м.];
```

***Биологический
(световой) м.***

Электронный м.

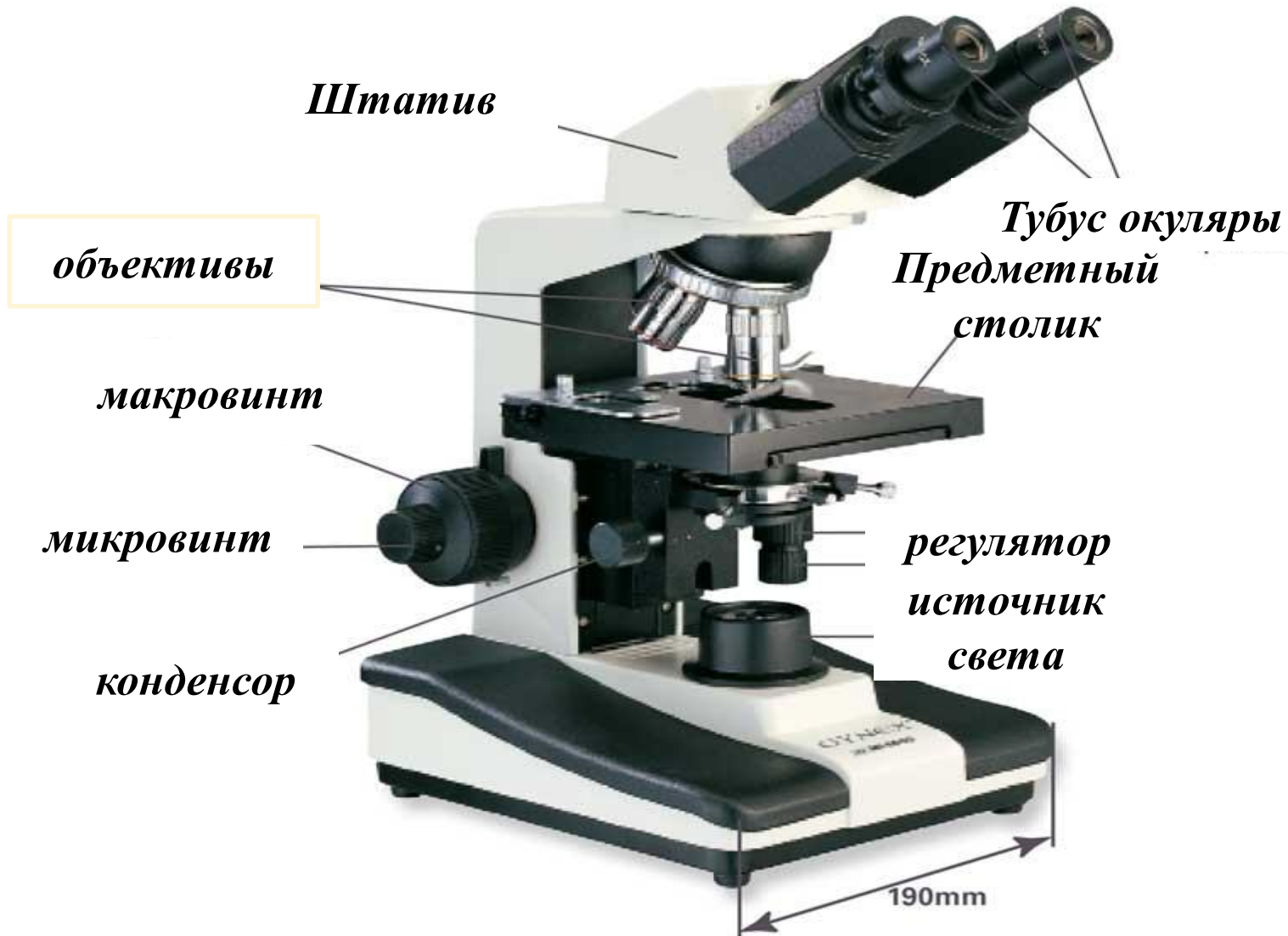
Другие м.

Темнопольный м.

***Контрастно-
фазный м.***

Люминесцентный м.

Строение светового микроскопа



Биологический микроскоп
состоит из двух частей:

Механическая

Оптическая

- | | |
|--------------------------|-------------|
| a) Штатив | Объективы |
| b) Ручка | Окуляры |
| c) Тубус | |
| d) Предметный столик | |
| e) Макрометрический винт | Освещение |
| f) Микрометрический винт | - зеркало |
| g) револьвер | - конденсор |

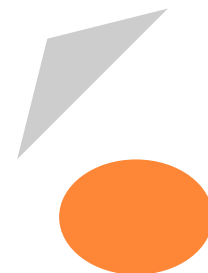
Предметный столик



✓Предметный столик относится к механической части микроскопа

✓Это часть микроскопа, на которую помещается препарат для исследования

✓На нём располагаются зажимы. Эти зажимы эластичные, они прижимают исследуемый предмет к предметному столику.



ТУБУС



✓Между окуляром и револьвером находится тубус, или смотровая трубка.

✓Тубус несёт направляющую функцию. Другими словами, он направляет лучи от изображения до глаза.

✓Расстояние между объективом и окуляром называется оптической длиной тубуса.



Окуляр

✓Слово окуляр образовано от слова «окулус» , что означает «глаз».

✓Окуляр расположен в верхней части тубуса

✓Окуляр выполняет функцию линзы, является одной из двух частей, увеличивающих изображение .

✓Для изучения препарата под микроскопом прислоняемся глазами к окуляру

✓Окуляр состоит из двух линз и придерживающей их рамки.

✓Линза, расположенная дальше от тубуса, называется «верхней» или «глазной» линзой, а другая- «нижней» линзой.



ТИПЫ ОБЪЕКТИВОВ

✓ **Объектив** состоит из двояковыпуклых линз и относится к оптической части микроскопа

- **фронтальная линза** находится спереди

- **корректирующая линза** находится сверху-сзади

Биологические микроскопы

(x8, 10, 40, 60) - сухой

(x90, x100) – снабжен иммерсионным объективом



Увеличительная способность микроскопа

➤ *Увеличение микроскопа равно произведению увеличений объектива и окуляра*

➤ ***Объектив X окуляр = полное увеличение***

➤ *Если объектив увеличен в 100 раз, а окуляра в 10 раз, общее увеличение микроскопа будет $100 \times 10 = 1000$ раз.*

➤ *Биологические световые микроскопы позволяют увеличить объект до 2000-3000 раз.*

➤ *Дифференциал 0,00027 мм*



Правила работы с иммерсионным объективом

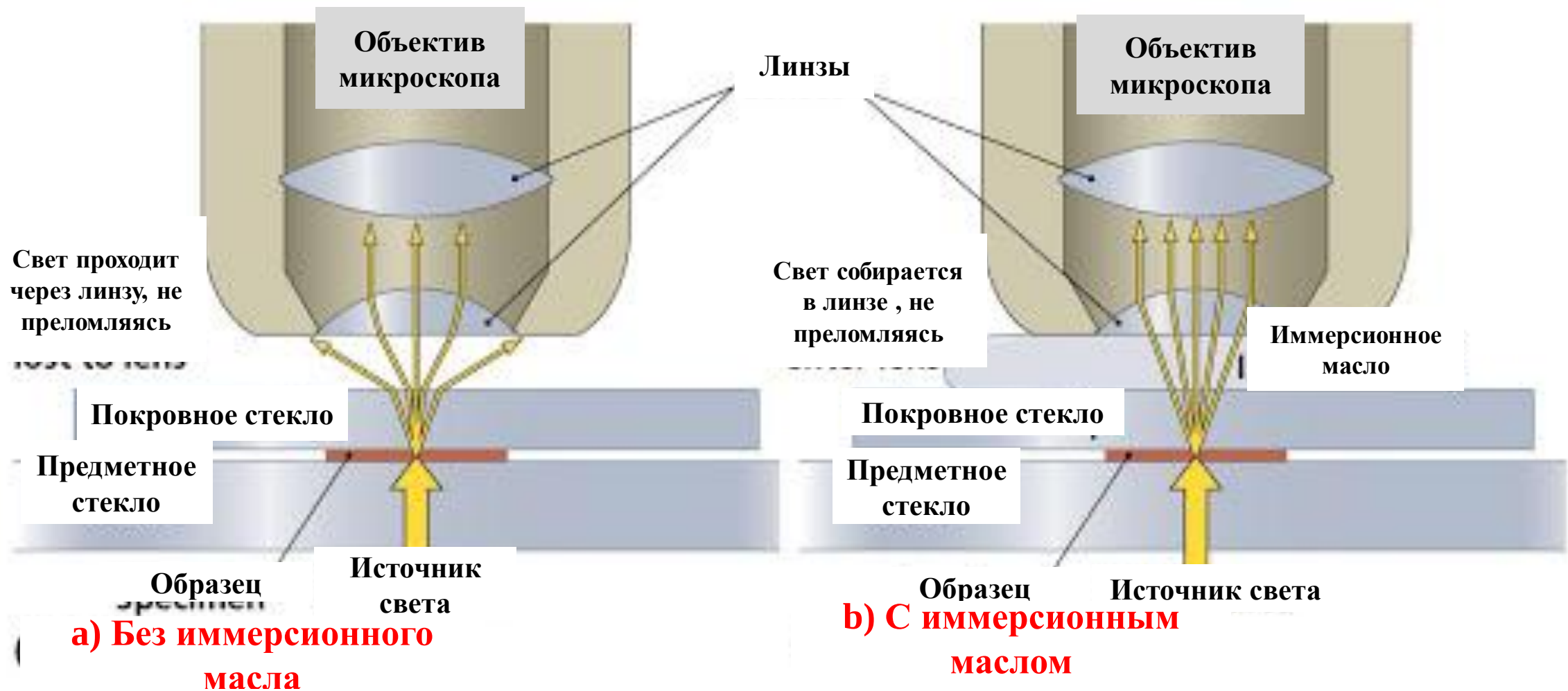
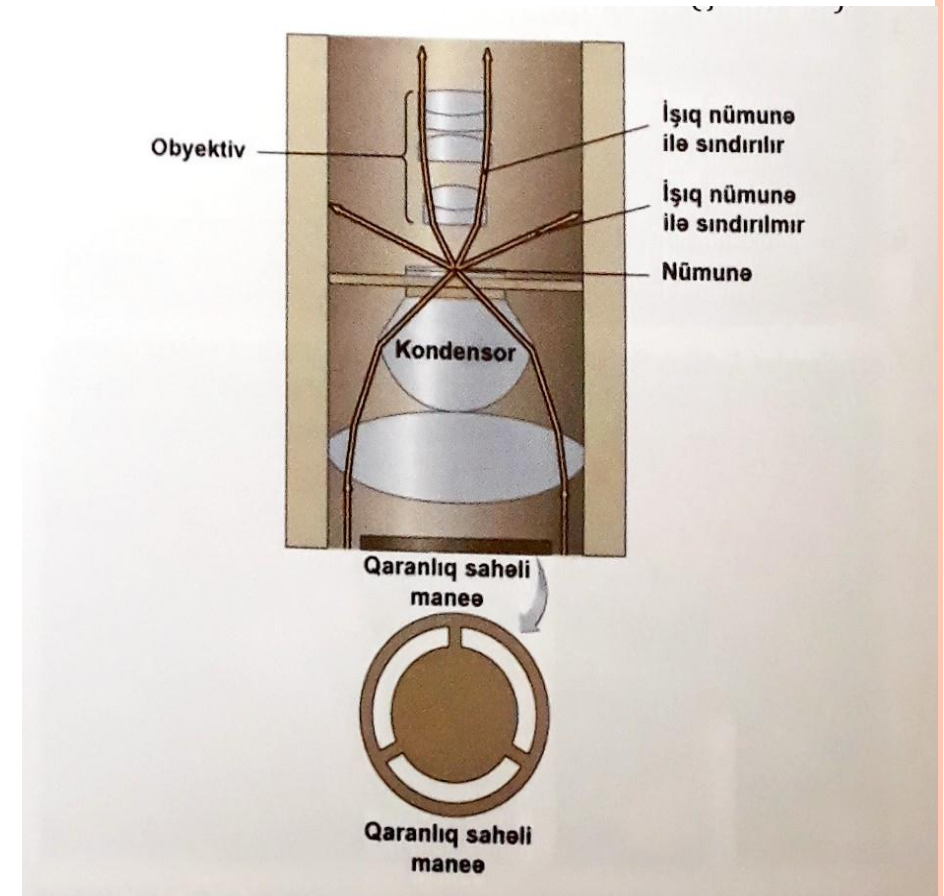


Схема исследования под световым микроскопом сухим (а) и иммерсионным (б) объективом

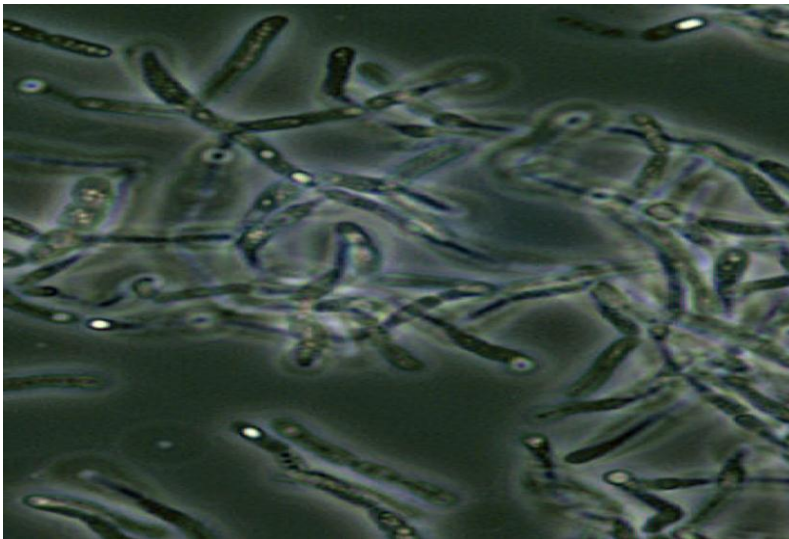
Темнопольный микроскоп

- У биологического микроскопа вместо конденсора имеется **паралоид -или кордиоид-конденсор**.
- У верхней линзы края закруглённые и бесцветные, а середина чёрного цвета.
- Специальный конденсор создаёт тёмное поле микроскопии, на котором видны светящиеся исследуемые частицы.
- Эти микроскопы позволяют увидеть не поддающиеся окраске такие микробы, как спирохеты, без окрашивания



ФАЗОВО-КОНТРАСТНЫЙ МИКРОСКОП

- Лучи света, проходящие через область высокой оптической плотности любого объекта, отстают от других областей по фазе. Такие области не видны под микроскопом, потому что они прозрачны. Поэтому, с помощью устройства контрастной фазы для получения контрастного изображения фазовая изменчивость световых лучей, проходящих через объект, преобразуется в амплитудную изменчивость, и прозрачные объекты видны под микроскопом.
- Устройство преобразует длину волны в длину фазы.
- Это сделано путем размещения специальной диафрагмы на световом микроскопе и дифракционной пластинки перед ним.
- Органеллы освещаются по-разному и могут быть легко идентифицированы под микроскопом
- Позволяет изучать структурные элементы бактерий, их размножение, споруляцию, действие химических веществ.



Споры *B.antracis* под контрастно-фазовым микроскопом

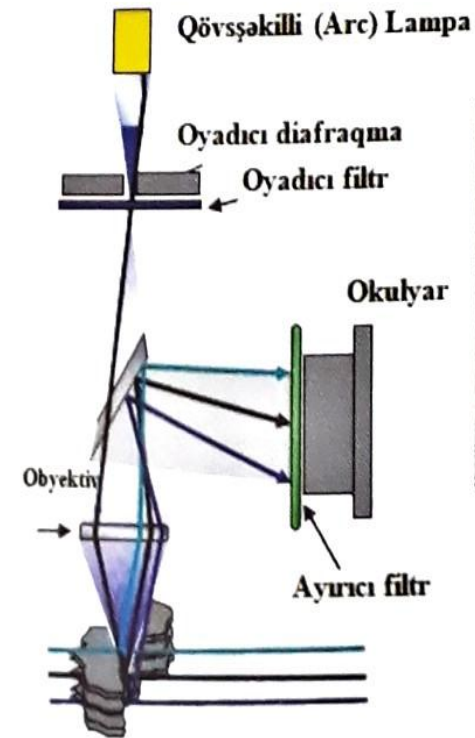


Люминесцентный (флюоресцентный) микроскоп

➤ **Люминисценция (lat. lumen – означает свет)** основана на превращении поглощённой потенциальной энергии в световую и свечении при охлаждении.

➤ **Применяется УФИ.** Поскольку эти лучи невидимы для человеческого глаза, препарат сначала окрашивают флюоресцентными красителями (акридин, аурамин, нейтральный красный, флюоресцеин и др.)

➤ **Микроорганизмы видны как флюоресцирующие частицы в тёмном поле.**



Fluorescent mikroskopun sxemi (sol),
fluorescent mikroskopda spiroxetlərin
görünüşü (sağ)

Схема флюоресцентного микрооскопа(справа),
спирохеты под флюоресцентным микроскопом
(слева)

ЭЛЕКТРОННЫЙ МИКРОСКОП

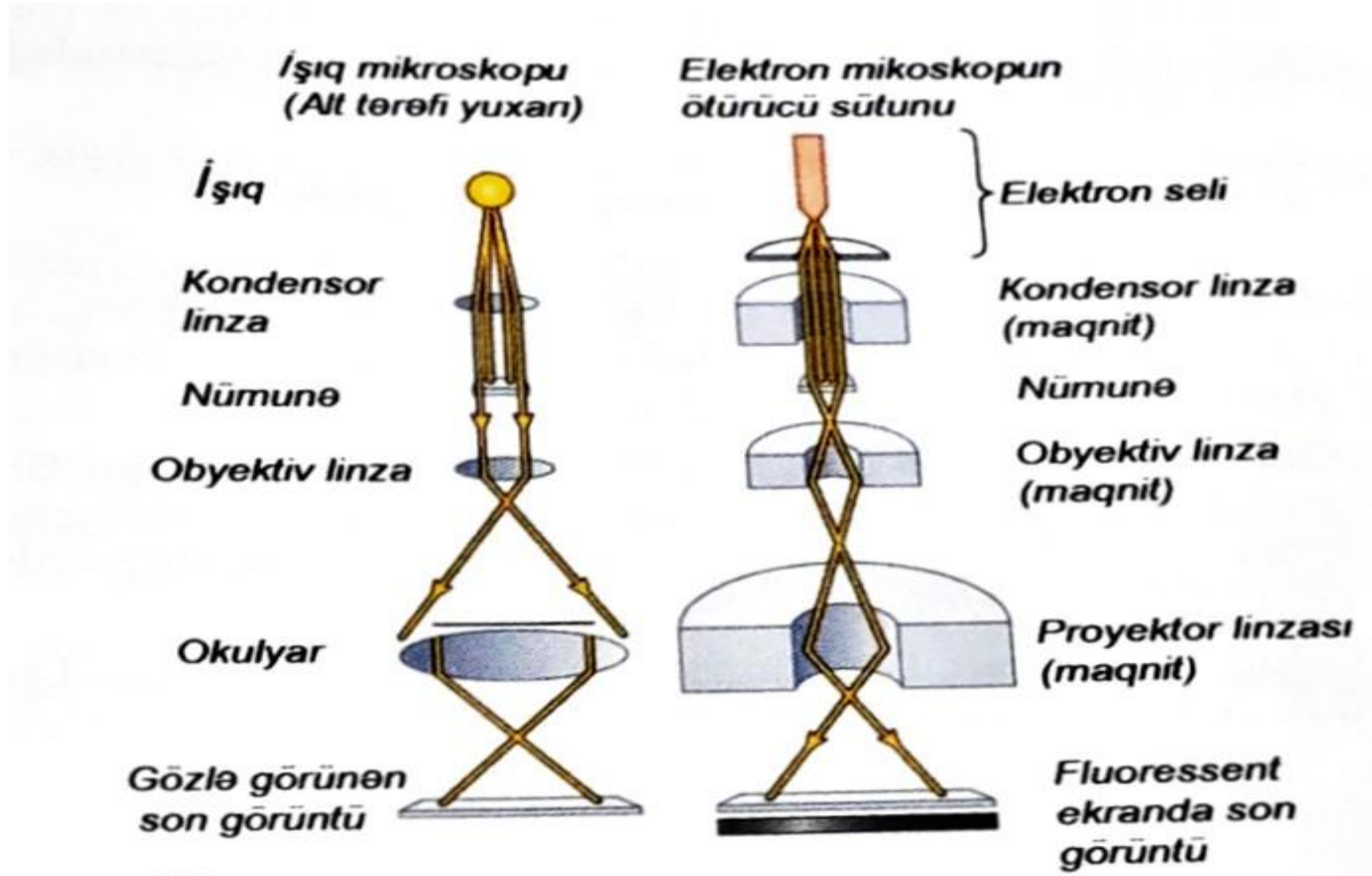
- ✓ В электронном микроскопе вместо световых лучей используется **поток электронов**.
- Электронный микроскоп позволяет увидеть очень мелкие объекты, такие как структурные элементы вирусов, бактерий и других микроорганизмов, макромолекулы и другие субмикроскопические частицы
- Длина волны электронного излучения примерно 0,005 нм, в 200000-300000 короче длины волны светового излучения.
- Так как длина волны электронного излучения короче длины волны света, поэтому полезное увеличение достигает самого верхнего предела и обеспечивает увеличение в 1000 больше ($\times 1\,000\,000$), чем световой микроскоп.



Электронный микроскоп



Принципиальная схема светового и электронного микроскопа



Сканирующий электронный микроскоп

Сканирующий электронный микроскоп (ing. Scanning Electron Microscope - SEM) – это прибор из класса электронные микроскопы.

- Это прибор для изображения крупных объектов (до 0,4 нанометра), поверхности объекта, а так же состава и строения поверхностного слоя, и для получения информации о других особенностях.*
- Основан на принципе взаимодействия электронного излучения и исследуемого объекта.*
- Полученную информацию компьютер выдаёт в виде картинки.*



Правила работы с иммерсионным объективом

✓Для микробиологических исследований, в основном применяется влажная (иммерсионная) (*immersio* - lat. погружение) система с высокой степенью увеличения (в 90раз).

✓Во время микроскопии лучи, попадающие на препарат, проходят через стекло и попадают в воздух, некоторые из них рассеиваются и не падают на линзу, снижая способность к изображению.

✓Поэтому для предотвращения рассеивания лучей используется иммерсионное масло (показатель преломления -1,52), показатель преломления которого близок к показателю преломления стекла.

✓Иммерсионное масло заполняет промежуток между линзой и препаратом, все лучи, проходящие через препарат, попадают в объектив, усиливая увеличение микроскопа

✓Объективы, в зависимости от сухого и влажного способа (масло, иммерсия - *immersio* (lat.заморозить)) делятся на две системы.

✓Иммерсионный объектив опускают в каплю масла.

✓Коэффициент преломления иммерсионного масла примерно равен коэффициенту преломления стекла -1,52, поэтому все лучи, проходящие через препарат не рассеиваются, а попадают в объектив.

Правило работы с микроскопом:



ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БАКТЕРИЙ

✓ *Бактерии (греч. bacteria - палочка) одноклеточные, не видимые невооруженным глазом микроорганизмы*

✓ *Прокариоты*

✓ *Седиментация рибосом 70S*

✓ *Не имеют ядерной мембраны и ядрышка*

✓ *Имеют одну хромосому*

*Митохондрии, лизосомы, аппарат Гольджи, эндоплазматический ретикулум **отсутствуют***

В цитоплазматической мембране отсутствуют стеролы (за исключением микоплазм)



www.bacteria.cz

Vibrio cholerae



Размеры бактерий

- **Длина бактерий**- варьирует от 1,5-3мкм (у микоплазмы 0,1-0,2мкм) до 10-15мкм (у возбудителя газовой гангрены 4-8 мкм).
- **Диаметр** - 0,6-0,8 мкм
- **Толщина**- 0,1- 2,5 мкм



$$1 \text{ mkm} = 10^{-6} \text{ m} = 10^{-3} \text{ mm}$$

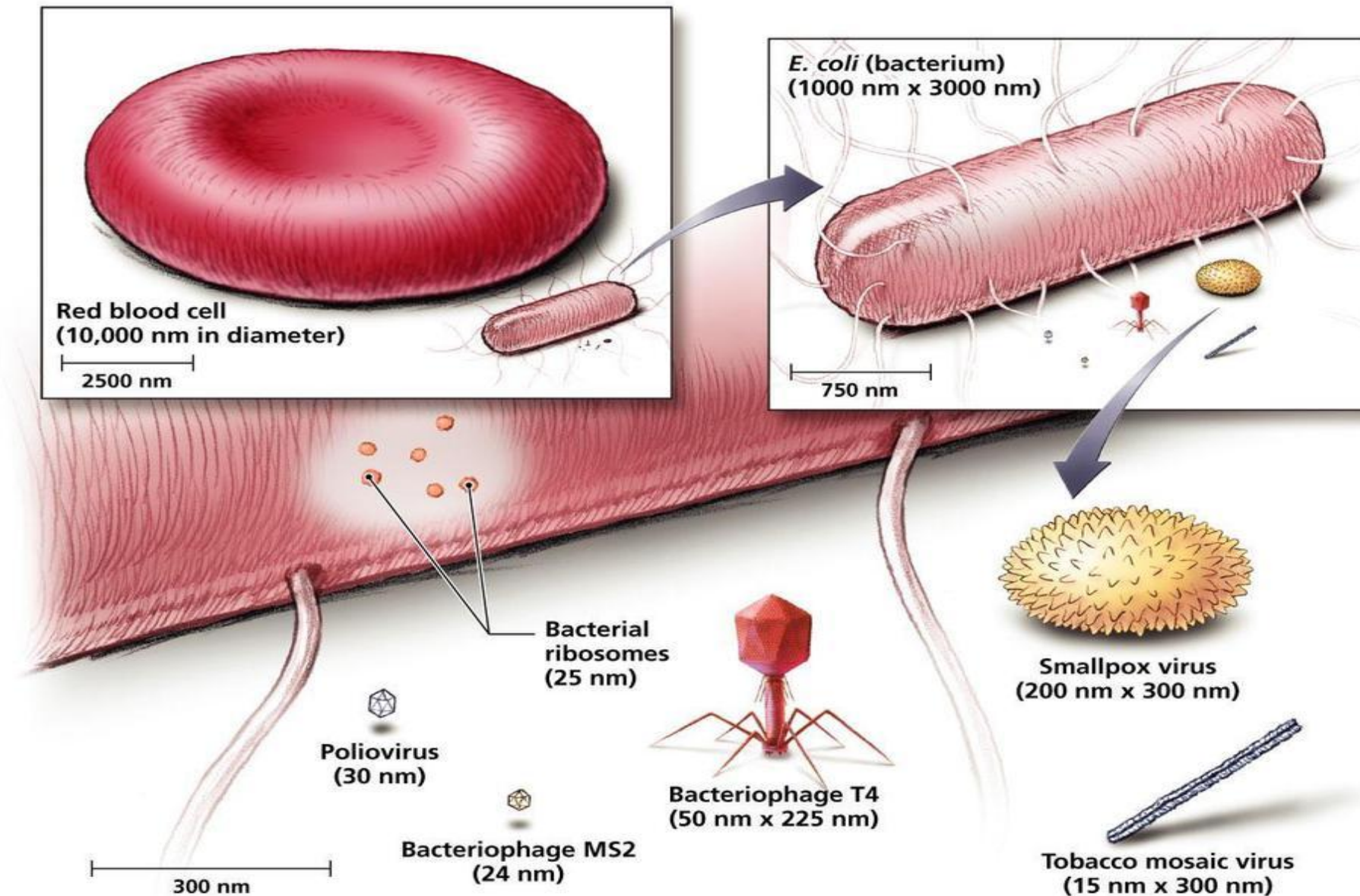
$$1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m} = 10^{-6} \text{ mm}$$

$$1000 \text{ nm} = 1 \text{ mkm}$$

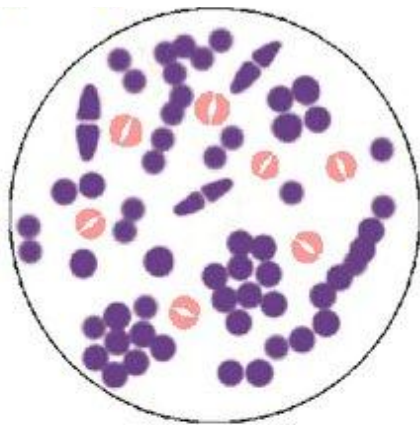
$$0.001 \text{ mkm} = 1 \text{ nm}$$



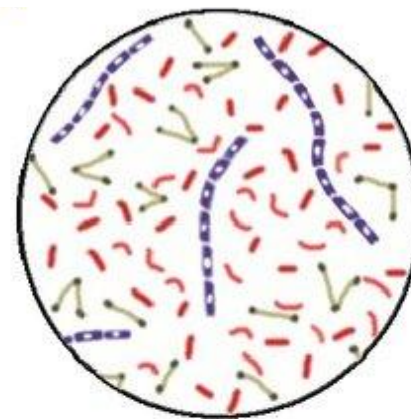
РАЗМЕРЫ БАКТЕРИЙ



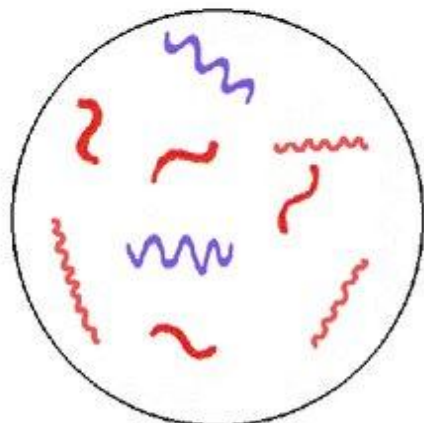
Морфология бактерий



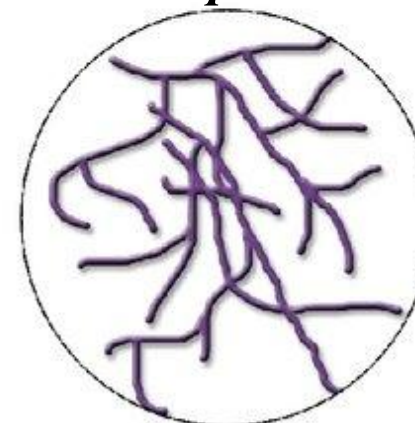
КОККИ



***Палочковидные
бактерии***



***Спиральные
бактерии***



Нитевидные бактерии



Кокки

Микрококки (греч. micros – **мелкий**) - делятся поперечно, располагаются раздельно

Диплококки (греч. diplos – **вместе**) - делятся поперечно, располагаются парами

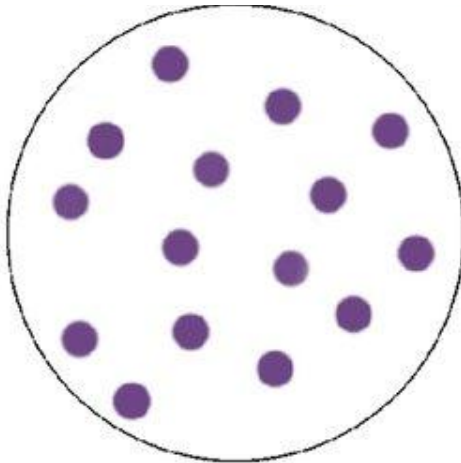
Стрептококки (греч. Streptos – **цепочка**) - делятся поперечно, располагаются в виде цепочек

Тетракокки (греч. tetra – **четыре**) - делятся перпендикулярно в двух плоскостях и располагаются по четыре

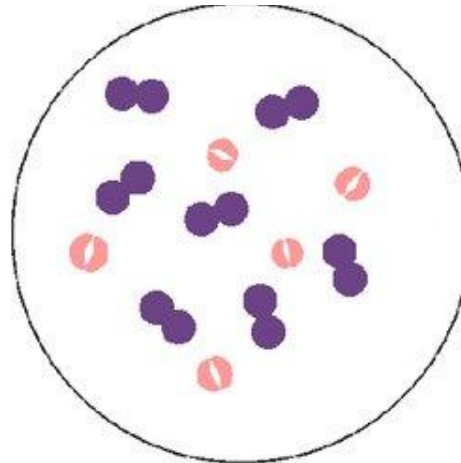
Сарцины (лат. sarcina – **сноп**) - делятся перпендикулярно в трёх плоскостях и располагаются в виде снопов

Стафилококки (греч. staphyle- **гроздь винограда**)- делятся перпендикулярно в двух плоскостях и располагаются в виде гроздей винограда

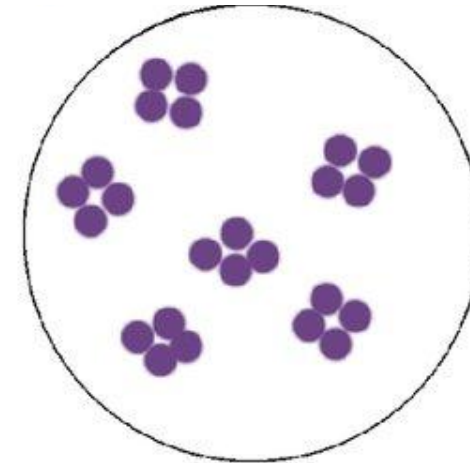
Сферические бактерии или кокки (0,5-1,5 мкм)



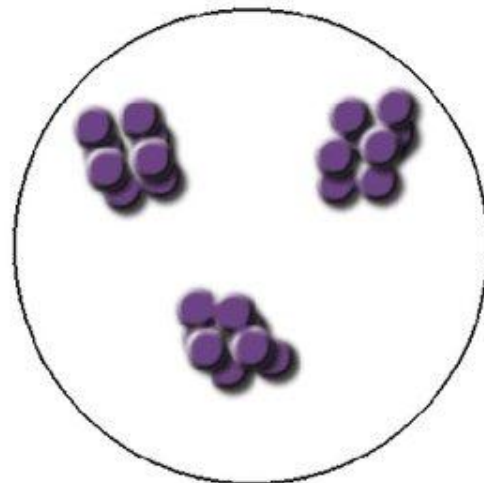
Micrococcus



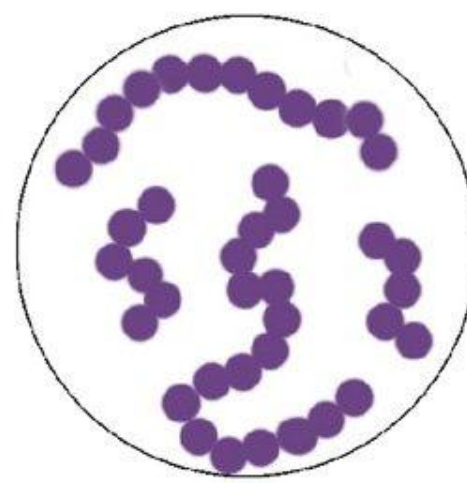
Diplococcus



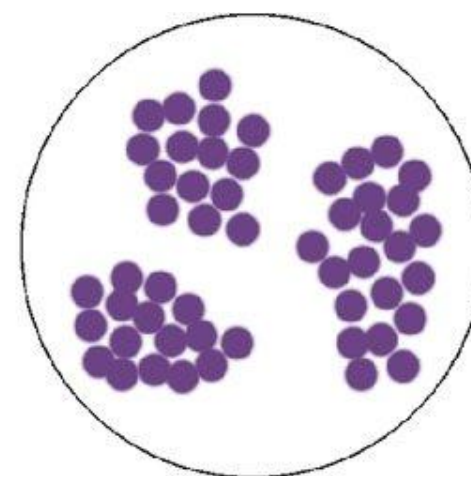
Tetrads



Sarcina



Streptococcus



Staphylococcus

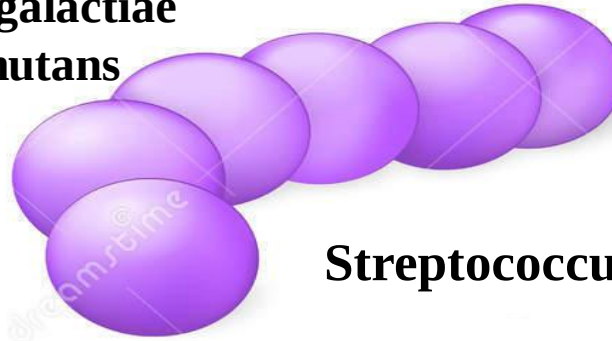


KOKKI



Micrococcus

**S.pyogenes
S.agalactiae
S.mutans**



Streptococcus



Diplococcus

**N.meningitidis
N.gonorrhoeae
S.pneumonia**



Sarcina



Tetracoccus



**Staphylococcus aureus
S.epidermidis,
S.saprophyticus**



Download from
Dreamstime.com

This watermarked comp image is for previewing purposes only.

ID

©

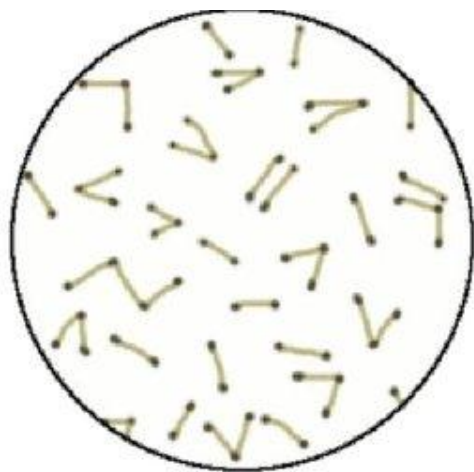


ПАЛОЧКОВИДНЫЕ БАКТЕРИИ:

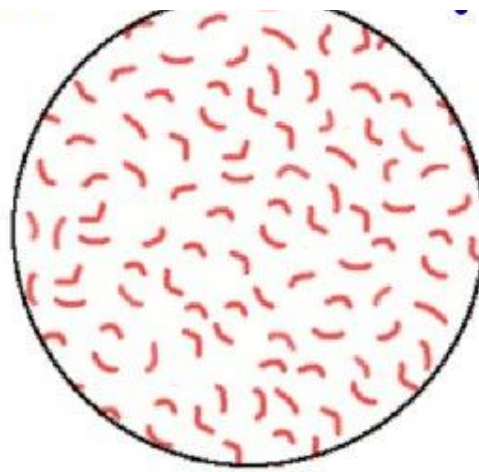
- Палочковидные бактерии или палочки имеют прямоугольные формы.
- По расположению:
 - одиночное хаотичное – кишечная палочка
 - попарно (диплобациллы) - *Klebsiella*
 - цепочки(стрептобациллы) – возбудитель сибирской язвы
- Концы клеток палочковидных бактерий
 - округлые (кишечная палочка)
 - обрубленные (бациллы)
 - заостренные (фузобактерии)
- По ширине:
 - бациллы (спорообразующие аэробные палочковидные)
 - клостридии (спорообразующие анаэробные палочковидные)



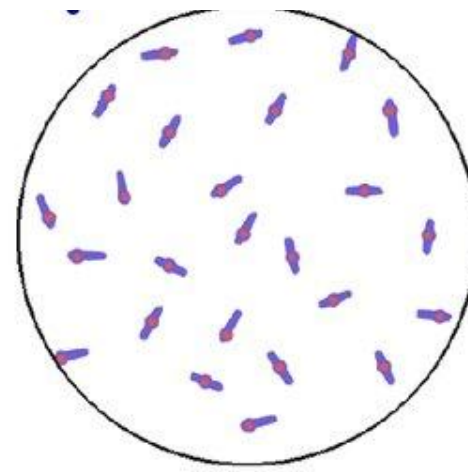
Палочковидные бактерии (0,3-10 мкм)



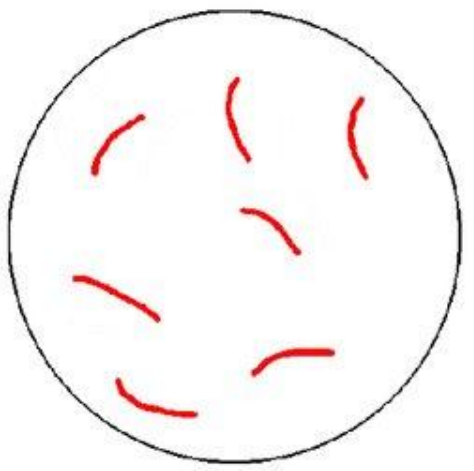
коринебактерии



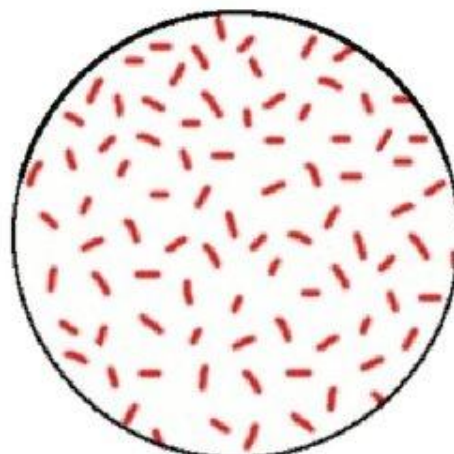
вибрионы



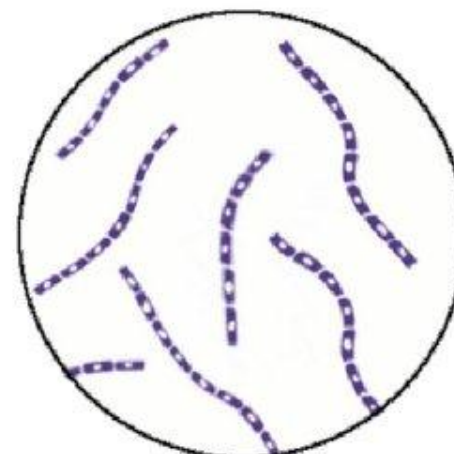
клостридии



микобактерии



эшерихии



стрептобациллы



ПАЛОЧКОВИДНЫЕ БАКТЕРИИ

1. эшерихии

2. клебсиеллы

3. бруцеллы

4. бациллы

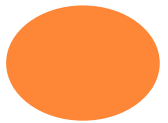
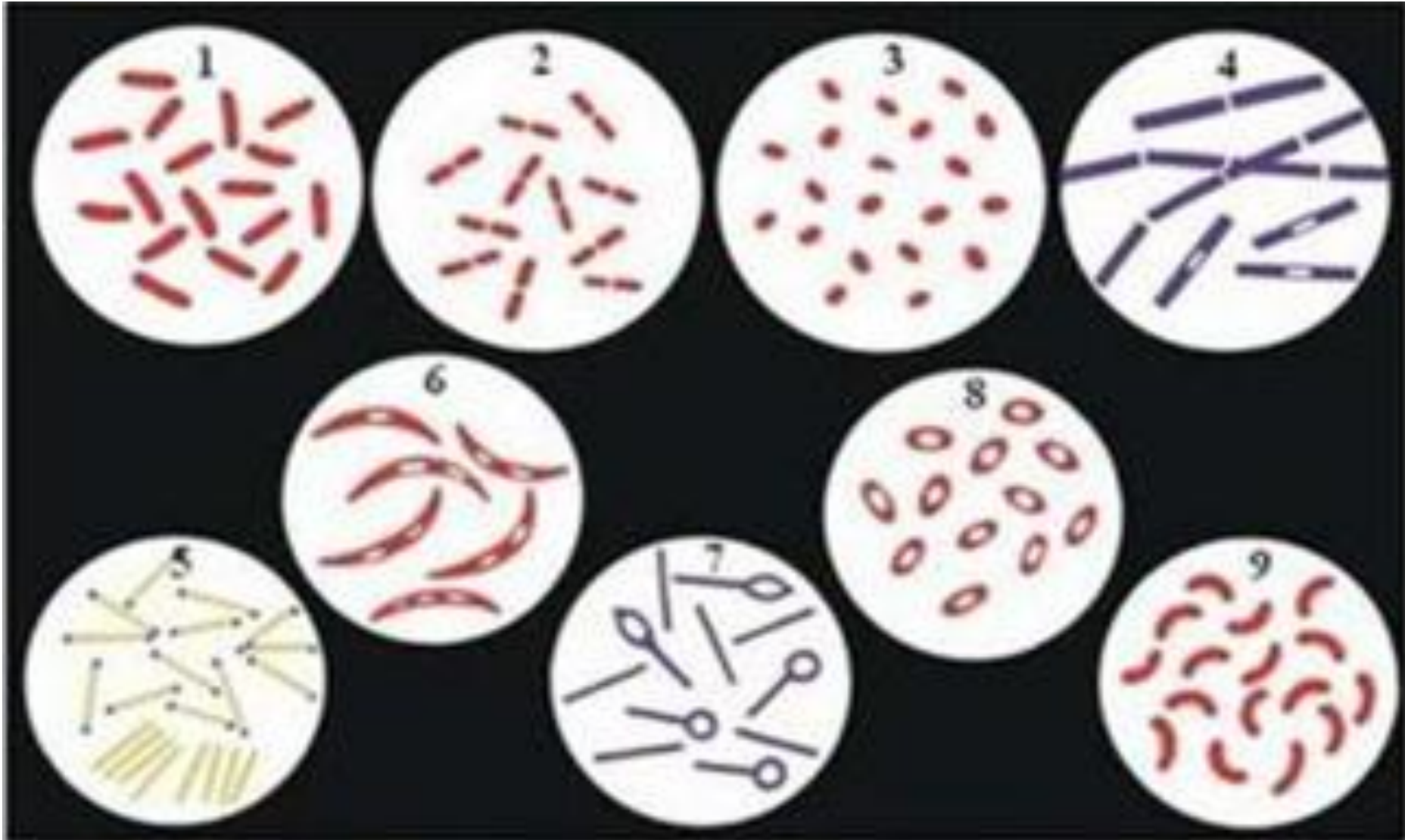
5. коринебактерии

6. фузобактерии

7. клостридии

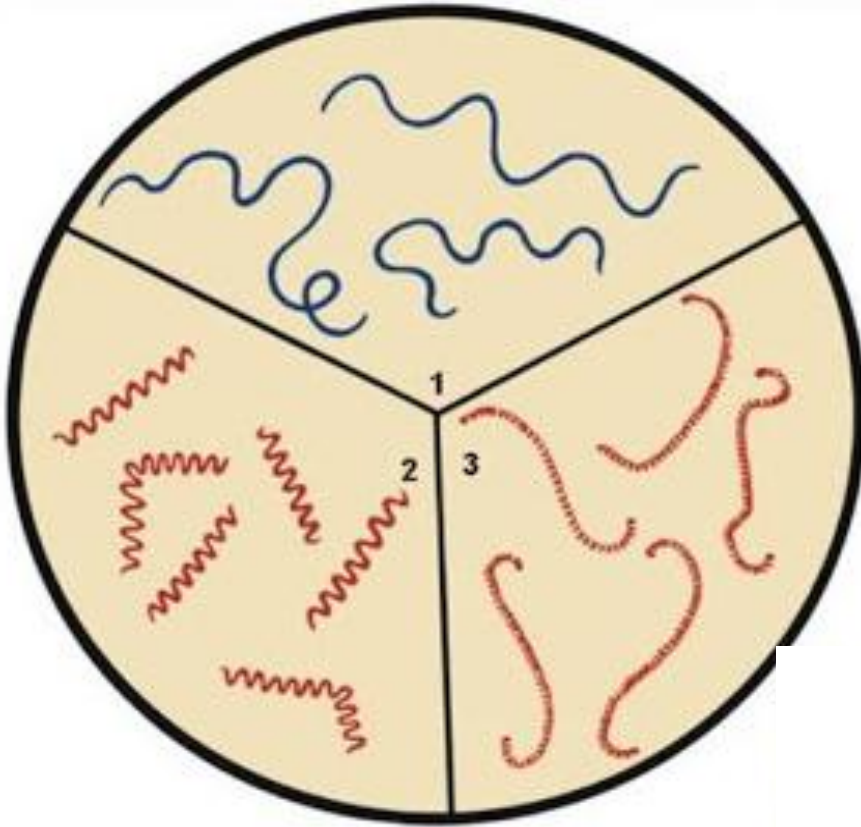
8. иерсинии

9. вибрионы



Спиралевидные бактерии(<20 мкм)

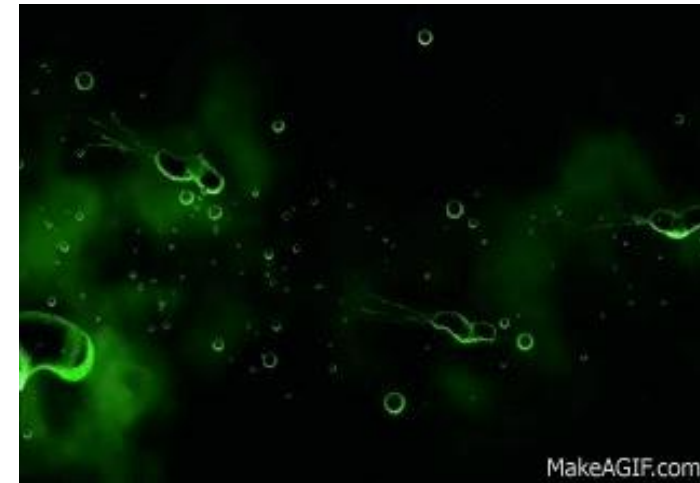
- Спириллы
- Спирохеты



1. Боррелии
2. Трепонемы
3. Лептоспиры



кампилобактерии



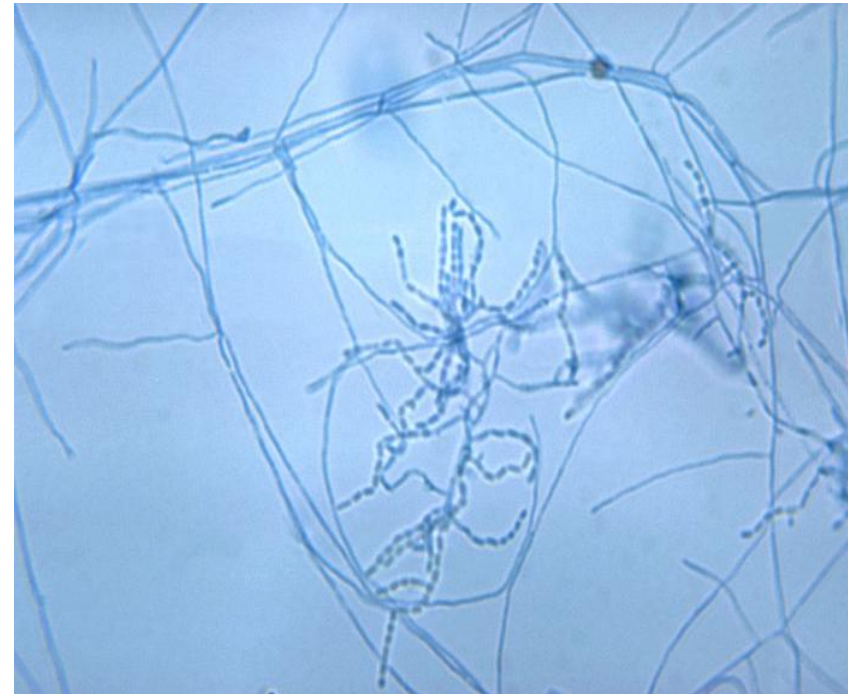
Helicobacter pylori



НИТЕВИДНЫЕ БАКТЕРИИ(10-50 мкм)



Актиномицеты



МИКРОСКОПИЧЕСКИЙ МЕТОД ИССЛЕДОВАНИЯ

- Микроскопический метод —основывается на распознавании возбудителей по их морфологическим признакам
- Метод позволяет выявлять возбудителей в патологических материалах, полученных от больных, в нативных или окрашенных мазках путем их микроскопирования
- В нативных или окрашенных мазках, приготовленных из микробных культур морфологические свойства возбудителей изучают с помощью микроскопирования (морфологическая идентификация)



Этапы приготовления мазка

Обезжиривание предметного стекла

Новое предметное стекло кипятят в 1% растворе соды, промывают водой, выдерживают в слабом растворе хлорной кислоты и вновь промывают

■Использованные предметные стекла выдерживают два часа в концентрированном растворе серной кислоты или водном растворе бихромата калия (100:50:1000), промывают водой, кипятят в растворе соды, промывают водой и протирают

■Обезжиривание возможно с использованием сухого мыла и дальнейшим протираaniem маревой салфеткой

■При приготовлении мазка для обезжиривания предметного стекла используют пламя горелки



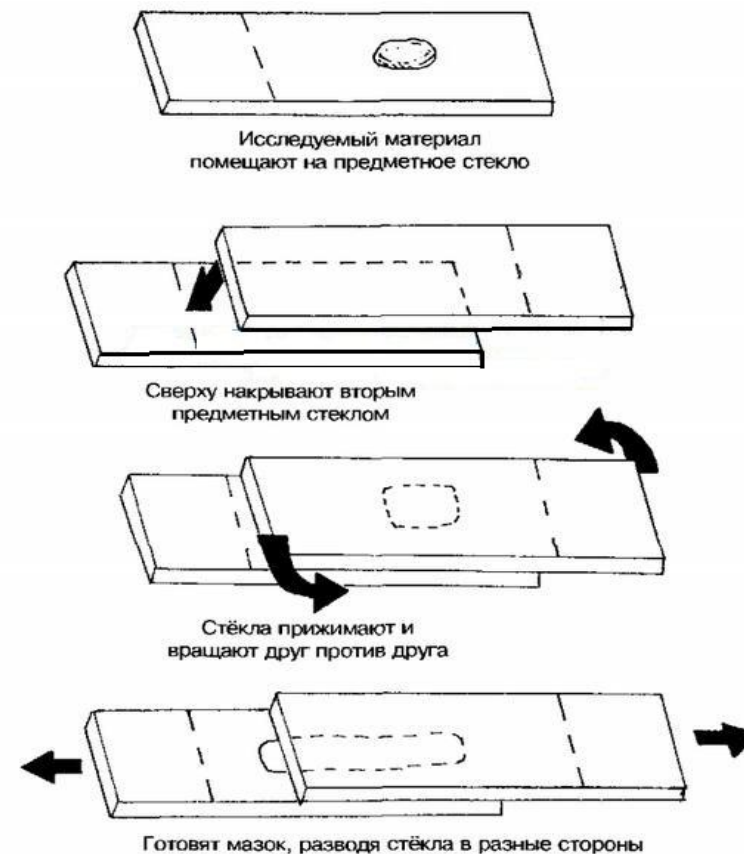
**ПРИГОТОВЛЕНИЕ МАЗКОВ ИЗ
ПАТОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА
ПАЦИЕНТОВ**



Приготовление мазка из гноя и мокроты

Для приготовления мазка из гноя и мокроты обезжиривается оба предметных стекла.

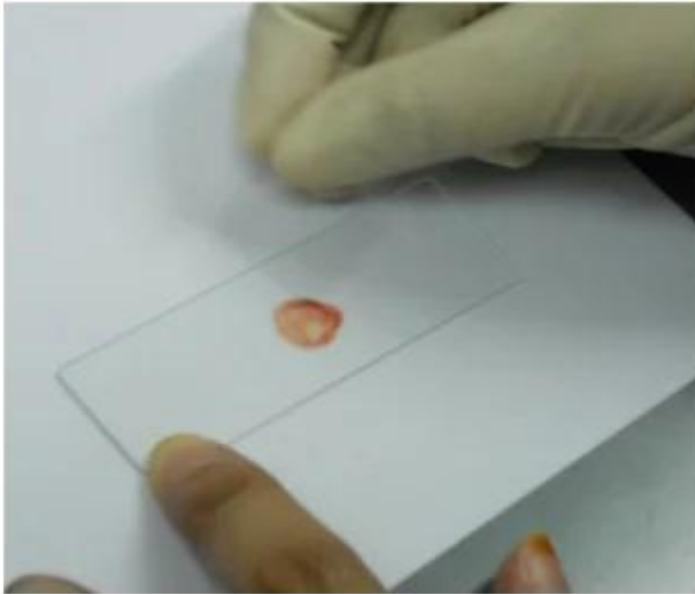
На одно стекло петлёй наносится одна капля материала и накрывается сверху вторым предметным стеклом, слегка придавливается, ткани и материал раздавливаются и мазок готовится движением в обратном направлении.



Из крови готовится два вида мазка:

➤Препарат «толстой» капли –для его приготовления на предметное стекло наносят 1-2 капли крови и размазывают петлёй мазок диаметром 1 см.

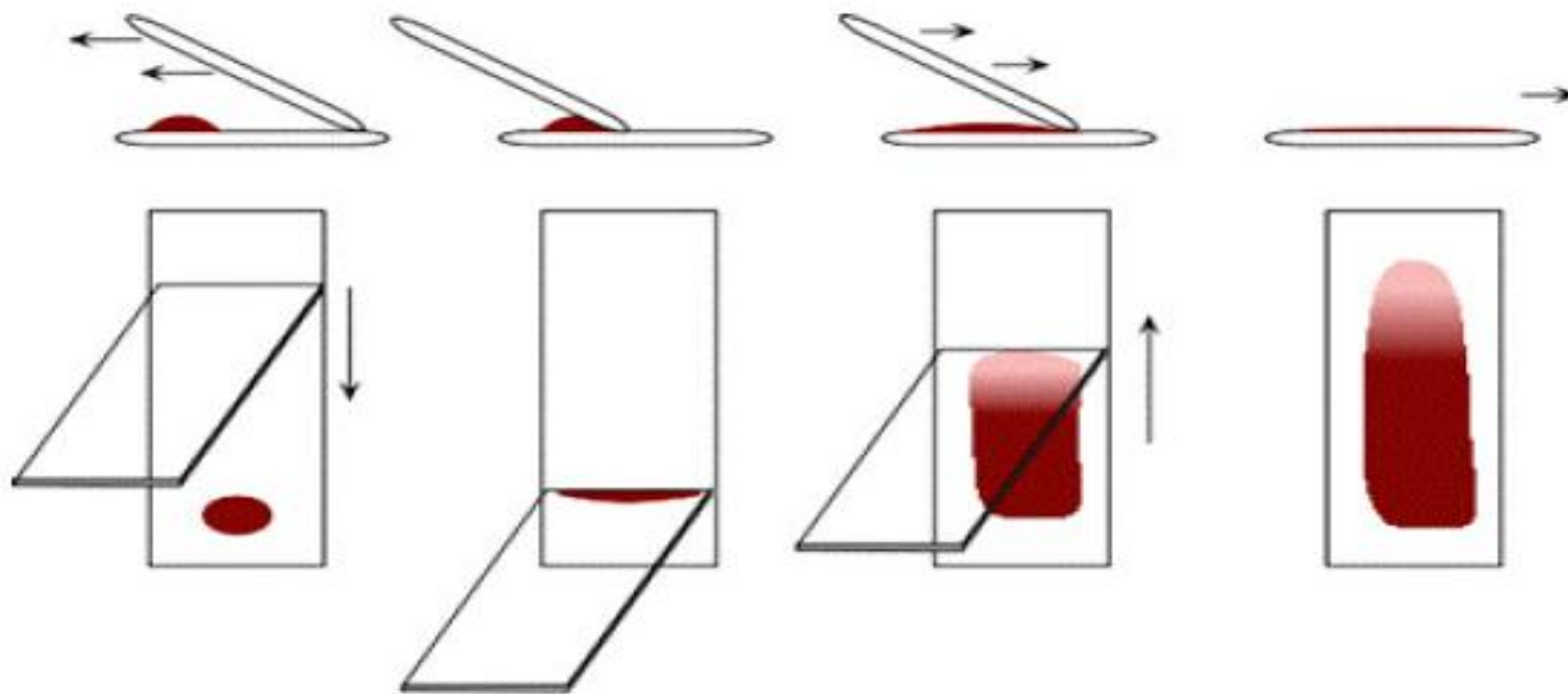
➤Применяется для обнаружения в крови паразитов.



Из крови готовится два вида мазка:

➤ **“Тонкий” мазок крови** – на одну сторону обезжиренного предметного стекла наносят 1 каплю крови, затем распределяют вторым стеклом под углом 45° .

➤ Позволяет определить вид возбудителя.



Приготовление мазков из бактериальных культур

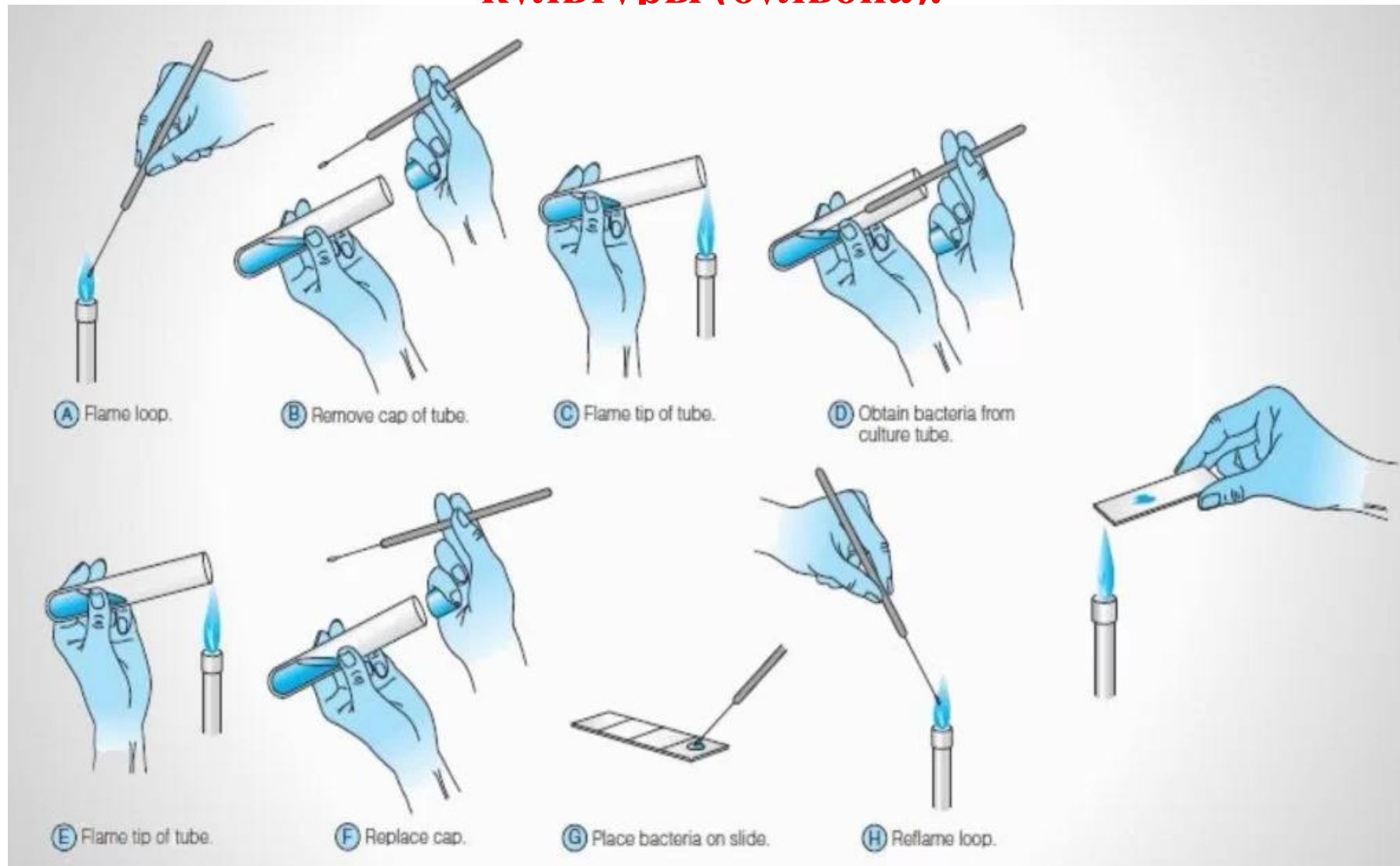


Этапы приготовления мазков:

1. Бактериологическая петля, которую держат в правой руке, раскаляют в пламени.
2. На обезжиренное предметное стекло наносится 1 капля физиологического раствора.
3. Пробирку с микробной культурой держа в левой руке (при условии, что поверхность питательной среды видна), при помощи указательного пальца и ладони правой руки снимается пробка, и пробирку с пробкой пропускают через пламя горелки.
4. При помощи Петли берется материал из пробирки.
5. Пробирку с пробкой пропускают через пламя, закрывают.
6. Микробную культуру на конце петли смешивают с физиологическим раствором в диаметре 1 см на поверхности покровного стекла.
7. Бактериологическая петля стерилизуется в пламени



Методика приготовления мазка из бактериальной культуры (бульона).



Микроскопический метод исследования

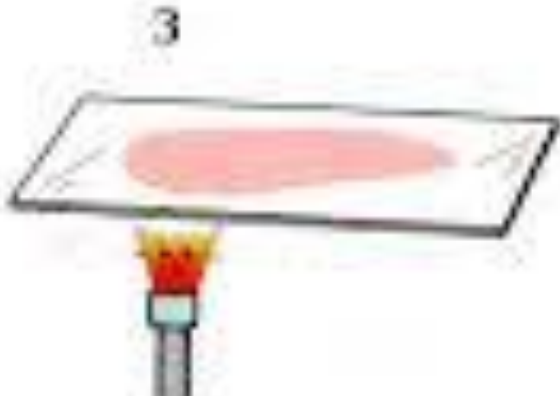
Этапы приготовления мазка



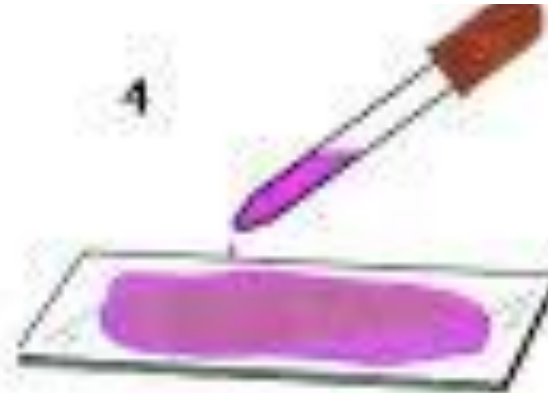
На предметное стекло наносится капля воды (физ. раствора)



К капле добавляется биологический материал и перемешивается



Высушивается и фиксируется



Сверху добавляется краситель и окрашивается



ВЫСУШИВАНИЕ МАЗКОВ

- *Мазки, в основном, высушивают открыто при комнатной температуре*
- *Толстые мазки высушивают в термостате либо над пламенем горелки.*
- *Мазок нужно держать большим и указательным пальцами правой руки поверхностью вверх.*
- *При пересушивании клеточные структуры разрушаются*
- ***Препараты, приготовленные из крови** нужно высушивать при комнатной температуре.*



Фиксация мазка (физическая, химическая, смешанная)

1. Мазок фиксируют на предметное стекло, чтобы он не удался при смывании и окрашивании.

Для обезвреживания микробов. Кроме того, убитые микробы окрашиваются лучше, чем живые.

3. Становятся безопасными для лаборанта и окружающих

Физико-термическая фиксация - мазок трижды проводят через пламя.

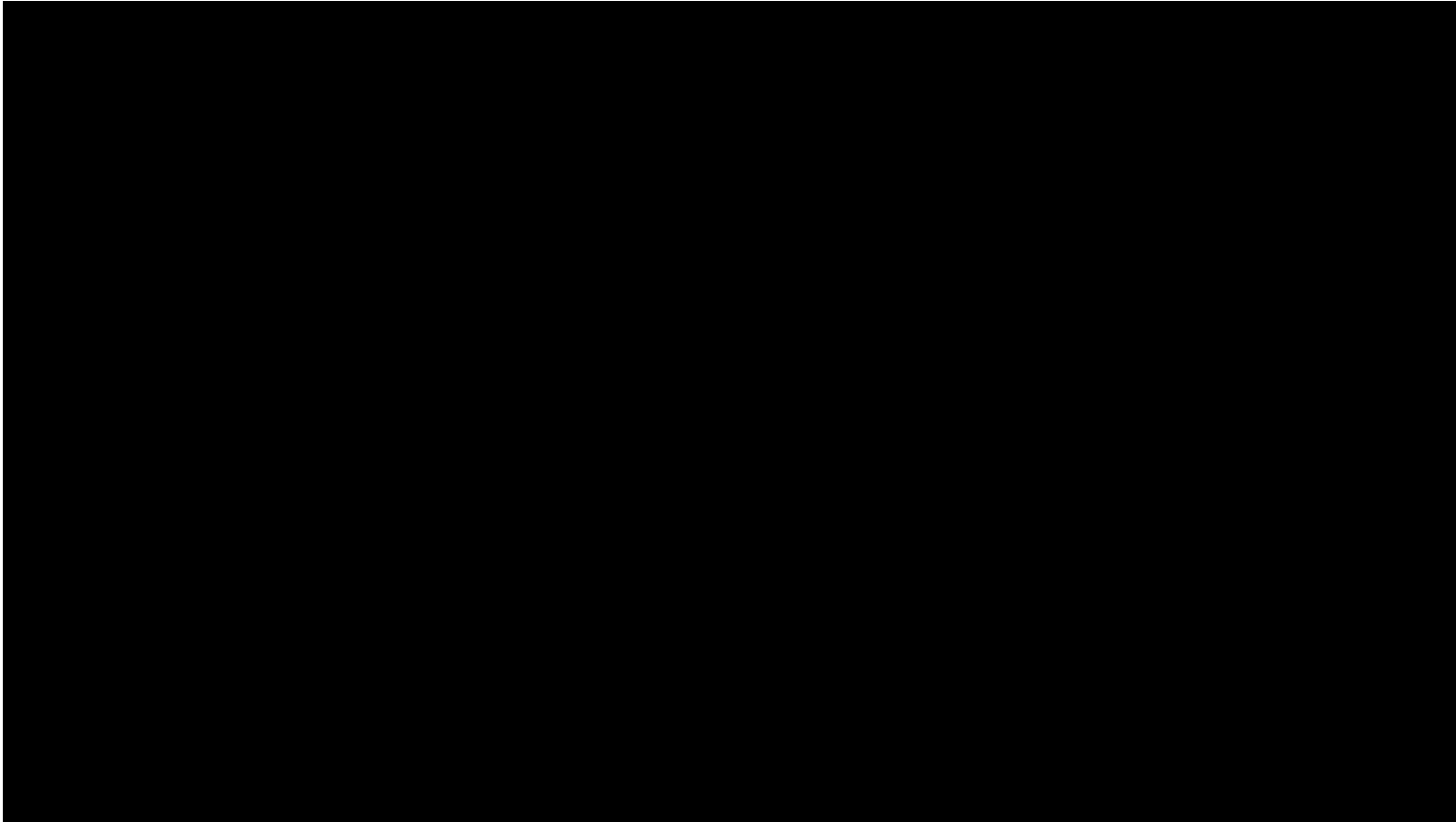
Химическая фиксация: метиловый спирт--5 мин, этиловый спирт и смесь Никифорова 10 мин, на пару осмиевой кислоты – 2-3 мин, в растворе формалина несколько секунд, в ацетоне 5 минут

Для фиксации крови и отпечатков органов..

Физико –химическая – смешанная фиксация



Приготовление мазка из бактериальной культуры



Окрашивание мазков



ТИНКТОРИАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА БАКТЕРИЙ

- ***Тинкториальные свойства – способность бактерий впитывать красители***
- ***Используется для морфологической идентификации бактерий***



Анилиновые красители.
Растворы красителей и их приготовление.

➤ ***Химические красители получают на основе угля, они называются анилиновыми красителями***

➤ ***Чаще используется основные красители.***

➤ ***Основные красители окрашивают клеточное ядро, а кислотные — протоплазму клеток.***

Кислые

- ***Кислый фуксин***
- ***эозин***

Щелочные

- ***Метиленовая синька, фуксин, шафранин, нейтрал-рот, генциан-виолет, хризоидин.***

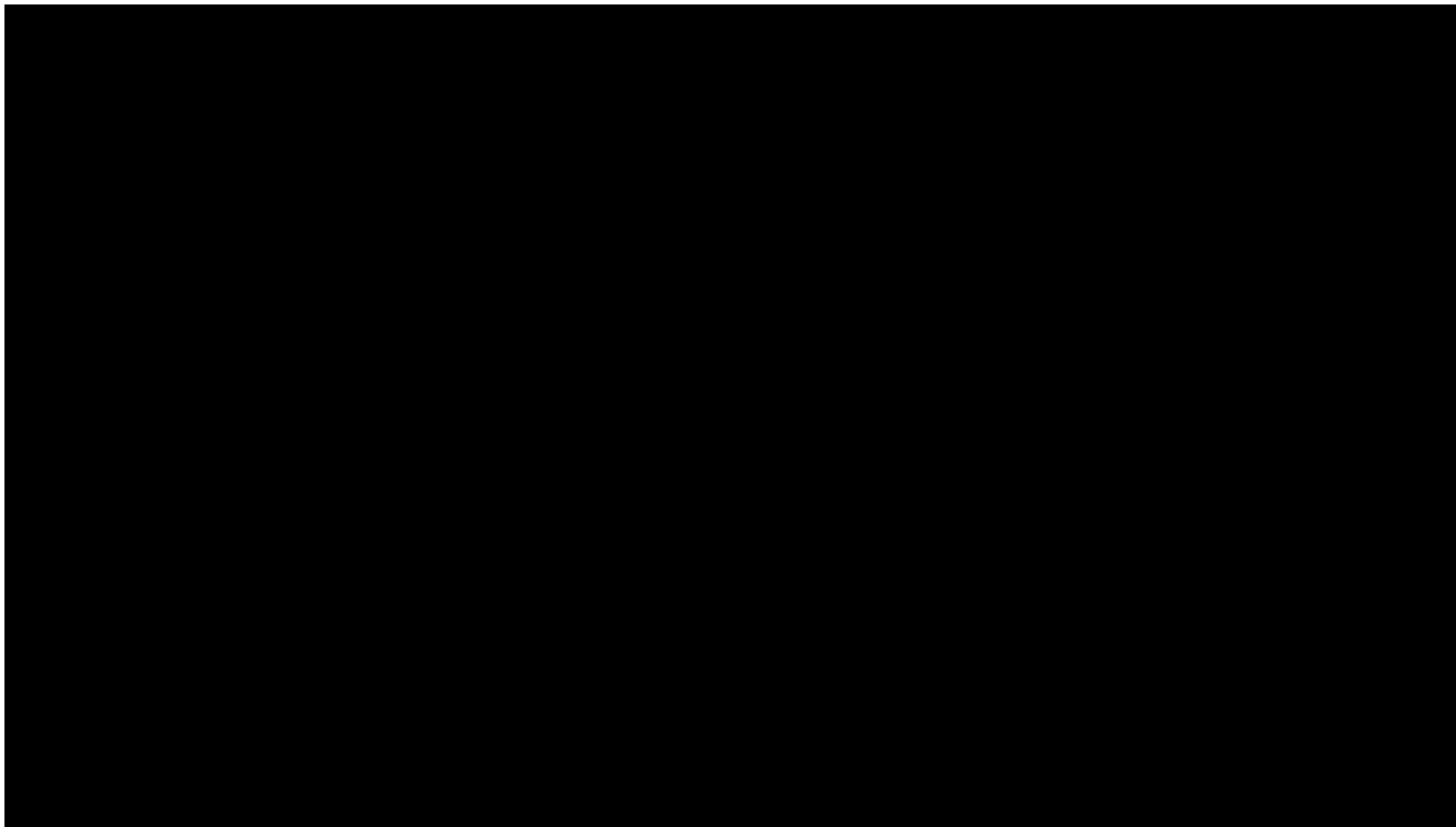


Простой метод окраски

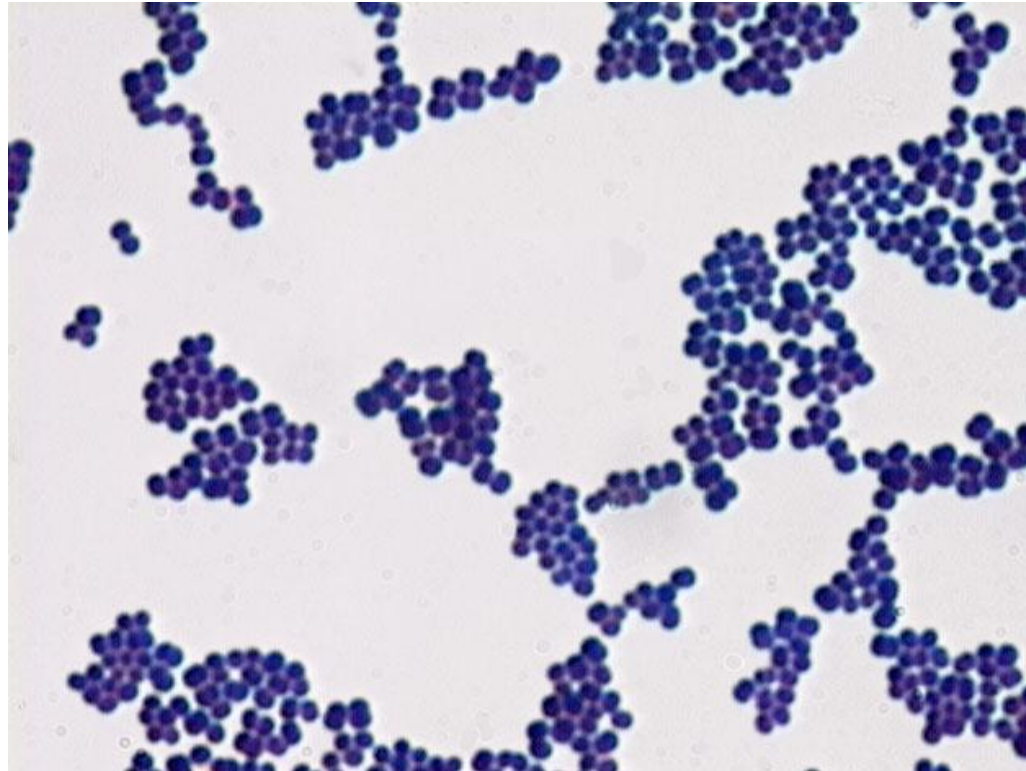
- Методы окраски подразделяются на *простые* и *сложные*
- При *простом методе* окраски используется всего один краситель.
- - *фуксин Пфейффера* (водный фулцин) - *1-2 мин.*
- *метиленовый синий* - *3-5 мин.*
- Такой способ подходит для изучения морфологии микробов.
- В исследуемом материале определяется наличие микроба, его количество и расположение



Простой метод окраски



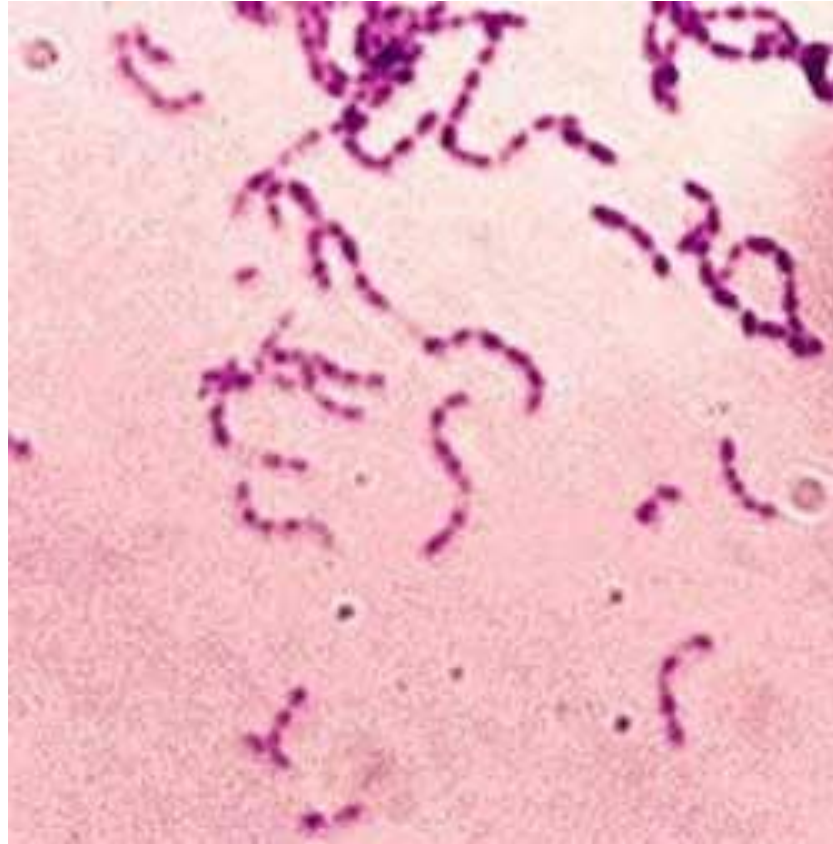
ПРОСТОЙ МЕТОД ОКРАСКИ



*Окраска метиленовой синькой
(3-5 минут)*



ПРОСТОЙ МЕТОД ОКРАСКИ



Окраска водным фуксином (1-2 минуты)



БЛАГОДАРЮ ЗА ВНИМАНИЕ

